

FRANCESCO ALVIANO
Ricercatore di Istologia, Alma Mater Studiorum Università di Bologna

Le cellule staminali: che cosa sono e quali sono le loro potenzialità applicative nella Medicina Rigenerativa

*Quando William Shakespeare, in uno dei suoi
drammi più noti, fa dire a Lady Macbeth:
“Però, chi mai avrebbe immaginato che il vecchio
avesse in corpo tanto sangue!...”,
non aveva ancora la nozione di quanto questo
sangue potesse essere più giovane della vittima, il
vecchio re, a cui apparteneva.*

*Mike Dexter and Terry Allen
“Multi-talented stem cells?”
News and Views, Nature 1992.*

Il concetto di “staminalità”, legato alla capacità generativa o ri-generativa, affonda le sue radici nel mito. Nella narrazione classica, Eschilo, V secolo a.C., racconta la vicenda di Prometeo, incatenato da Zeus ad una rupe del Caucaso, per aver rubato il fuoco e averne fatto dono agli uomini. Per punire il Titano, ogni giorno un’aquila gli divora il fegato, che, durante la notte, ricresce, per subire il mattino dopo di nuovo il supplizio. Il secondo dono prometeico, nell’immaginazione del genere umano, diventa quindi l’intuizione della rigenerazione dei tessuti.

Per poter associare il concetto di rigenerazione con gli elementi cellulari e molecolari che sono alla base di questo processo dovranno poi passare diversi secoli.

Aristotele, nel IV secolo a.C., conclude le sue osservazioni biologiche affermando che gli organismi animali e vegetali sono formati da elementi fondamentali identici, identificando in modo speculativo l’unità biologica fondamentale per eccellenza: la cellula.

Grazie all’avanzamento tecnologico e alle osservazioni sperimentali, nella metà del XIX secolo, Matthias Jacob Schleiden e Theodor Schwann formulano la teoria unitaria cellulare che individua l’unità strutturale e funzionale alla base dell’organizzazione morfo-funzionale dei tessuti e degli organi. A questo punto il passaggio che lega la cellula al processo di generazione o rigenerazione è breve. Il termine “staminale” compare per la prima volta nella letteratura scientifica nel 1868, nei lavori dell’illustre biologo tedesco Ernst Haeckel. Nella sua visione evuzionistica, Haeckel utilizza il termine “*Stammzelle*” (cellule staminali in tedesco) per descrivere gli organismi unicellulari, raffigurati in schemi o alberi filogenetici (*stamen*, “tronco”, “ceppo”, “origine” in latino), che rappresentano l’evoluzione e la derivazione di tutti gli organismi pluricellulari da antenati unicellulari. Per trasposizione, dal concetto evuzionistico legato alla filogenesi degli organismi viventi, Haeckel approda all’ontogenesi, ovvero la sequenza di processi embriologici che concorrono alla formazione di un individuo di una determinata specie, proponendo che l’uovo fecondato, lo zigote, venga chiamato cellula staminale. Il termine staminale è riferito quindi a due accezioni: l’antenato unicellulare di tutti gli organismi multicellulari e la cellula uovo fecondata, cellula staminale per eccellenza, capostipite di tutte le cellule dell’organismo.

Il concetto di “cellula staminale” viene arricchito da osservazioni sperimentali e declinato per riferirsi a singole cellule capostipite di una linea di “specializzazione” cellulare, come quella ematopoietica, per esempio, capace di generare tutti gli elementi figurati circolanti nel sangue.

In questo contesto, nel 1908, Alexander Maximov, istologo ed embriologo russo, propone per la prima volta il termine “cellula staminale”, nell’assise del congresso della Società di Ematologia di Berlino, per postulare l’esistenza di cellule staminali ematopoietiche capaci di sostenere la formazione delle cellule del sangue, durante lo sviluppo embrionale e nella vita post-natale.

Questo segna una tappa fondamentale nella storia delle cellule staminali. Da questo momento passeranno circa 50 anni di appassionanti studi e ricerche per arrivare alla dimostrazione sperimentale, da parte di James Till e Ernest McCulloch, della presenza, nel midollo osseo di topo, di cellule in grado di auto-rinnovarsi.

Oggi la maggior parte degli scienziati definisce la cellula staminale come una cellula indifferenziata, diversa quindi dalle cellule mature, capace di auto-mantenersi (in inglese il termine che indica questa proprietà è *self-renewal*) e proliferare per tutta la durata di vita di un organismo, mantenendo l’omeostasi dei tessuti di origine attraverso la capacità di differenziare in uno o più tipi cellulari specializzati.

Le cellule staminali possono essere classificate in base al loro potenziale differenziativo oppure in base alla loro origine. Per quanto riguarda il potenziale differenziativo, le cellule staminali possono essere suddivise in cellule totipotenti, pluripotenti, multipotenti, oligopotenti e unipotenti. In base alla loro origine, relativa a diversi periodi della vita di un organismo o a derivazioni artificiali o, infine, patologiche, le cellule staminali possono essere distinte in cellule staminali embrionali, fetali, adulte, riprogrammate e tumorali.

La cellula staminale per eccellenza, capostipite di tutte le cellule di un organismo, è lo zigote, la cellula che deriva dal processo di fecondazione che avviene tra i due gameti, lo spermatozoo e l’ovocita. Lo zigote, e le cellule che derivano da esso per segmentazione fino allo stadio a 8 cellule, sono cellule totipotenti, in grado di dare origine a tutte le cellule di un individuo, compresi i tessuti extraembrionali che supportano lo sviluppo dell’organismo. Le cellule pluripotenti sono un gradino sotto le cellule totipotenti: a questa categoria appartengono le cellule embrionali che si originano nei successivi processi di sviluppo e che saranno in grado di generare tutte le cellule di un essere vivente ad eccezione dei tessuti extraembrionali di supporto. Queste cellule si ritrovano nella massa cellulare interna della blastocisti fino al 4-5° giorno dalla fecondazione. Le cellule staminali embrionali (in inglese “*Embryonic Stem Cells*”, ESC) derivano artificialmente dalla massa cellulare interna della blastocisti che viene distrutta per la loro derivazione e messa in coltura per la generazione di linee

cellulari staminali stabili. Le cellule multipotenti derivano dalle cellule embrionali durante i processi di formazione dei tre foglietti embrionali e sostengono, durante la fase organogenica, la formazione dei tessuti e degli organi in cui sono residenti. Le cellule multipotenti permangono nella vita post-natale, risiedono nei tessuti adulti dove sono in grado di generare diverse linee di differenziamento. Esemplicative di questo processo sono le cellule staminali emopoietiche (in inglese “*Hematopoietic Stem Cells*”, HSC) in grado di differenziare in tutte le popolazioni cellulari circolanti nel sangue, e le cellule staminali mesenchimali (in inglese “*Mesenchymal Stem Cells*”, MSC) capaci di originare tutti i tessuti connettivi quali osso, cartilagine, tessuto adiposo, muscolo e vasi. Le cellule oligopotenti e unipotenti hanno una capacità di specializzazione sempre più ristretta e potranno differenziare in pochi o singoli citotipi come le cellule staminali nervose (in inglese “*Neural Stem Cells*”, NSC), in grado di formare neuroni e cellule di supporto presenti nel sistema nervoso, e, come le cellule staminali epiteliali (in inglese “*Keratinocyte Stem Cells*”, KSC), in grado di commissionarsi nelle cellule specializzate che costituiscono gli strati più esterni della nostra cute. La diversa appartenenza ad uno degli scalini di questa gerarchia dipende dalla plasticità del genoma, ovvero dalla possibilità di leggere in modo diverso le informazioni che sono contenute in modo eguale in tutte le cellule. La plasticità del genoma consiste in una particolare organizzazione spaziale del materiale genetico contenuto nel nucleo delle cellule, che consente l’accessibilità alla “lettura” dei geni che controllano lo stato indifferenziato, la capacità di auto-mantenimento, il differenziamento più o meno ampio nelle diverse cellule specializzate, in sintesi il destino cellulare. Si accendono e si spengono “programmi” che governano l’espressione genica e indirizzano una cellula durante lo sviluppo embrionale e nel mantenimento dell’integrità dei tessuti e degli organi nella vita post-natale e adulta.

Le cellule che man mano perdono “potenza” staminale vanno incontro a una perdita progressiva di plasticità del genoma, restringendo quindi la loro capacità differenziativa e i tipi di cellule specializzate che possono generare. In una cellula staminale, maggiore è il numero dei geni di un programma di differenziamento cellulare che rimangono “leggibili” maggiore è quindi la plasticità del genoma. Il mantenimento della staminalità non dipende solo dalla plasticità del genoma ma è influenzato anche dal microambiente, inteso come l’insieme dei segnali molecolari che la cellula staminale riceve dalle cellule e dalla matrice extracellulare che la circondano. Le cellule staminali che si originano durante le fasi dello sviluppo embrio-fetale, e che

ritroviamo nei tessuti come cellule somatiche, perdono progressivamente plasticità man mano che differenziano. Rimangono nella vita post-natale e adulta come cellule staminali e risiedono in strutture dall’architettura anatomicamente definita, denominate “nicchie”. La cellula staminale mantiene le sue proprietà e potenzialità all’interno della “nicchia”: le cellule embrionali contribuiscono alla formazione dei tessuti durante l’organogenesi embrionale e l’accrescimento fetale; le cellule staminali nell’adulto partecipano alla sostituzione delle cellule che degenerano per il fisiologico ricambio o per un danno patologico. Queste funzioni, svolte in particolar modo dalle cellule adulte, hanno suscitato l’interesse dei ricercatori e di conseguenza dell’opinione pubblica per sviluppare e supportare strategie di rigenerazione e riparazione dei tessuti e degli organi invecchiati o danneggiati a seguito di traumi o malattie degenerative.

Le possibilità di rigenerare tessuti e organi del corpo ritrova un nuovo slancio alla fine del XX secolo grazie alle ricerche sulle ESC umane e alla conferma sperimentale della presenza di cellule staminali in tessuti considerati immutabili, fino a quel momento, come il cuore e il tessuto nervoso. Le ricerche di James Thomson descrivono, nel 1998, la possibilità di isolare e mantenere in coltura, per tempi indefiniti, cellule staminali embrionali derivate da blastocisti umane, aprendo così la strada alla produzione di tessuti *in vitro* per scopi terapeutici. Lo sviluppo delle ESC è stato strettamente correlato alla nascita delle cliniche per la fecondazione assistita, nelle quali venivano conservati embrioni in soprannumero, che divennero pertanto la sorgente primaria da cui cercare di ottenere le linee cellulari staminali per scopi di ricerca. Le cellule embrionali derivate dalla massa interna delle blastocisti vengono isolate e disgregate in piccoli gruppi che vengono seminati *in vitro* su un monostrato di fibroblasti che funge da letto nutritivo. Le ESC crescono come piccoli *foci* o colonie cellulari che possono essere propagate *in vitro* per innumerevoli passaggi o congelate per essere utilizzate all’occorrenza.

Il mantenimento della staminalità intesa come capacità di auto mantenimento e plasticità differenziativa, nelle ESC, è governato da un triumvirato di fattori molecolari che sovrintende decine di geni coinvolti. I fattori principali, registi della staminalità, sono proteine altamente conservate dal punto di vista evolutivo nei vari organismi, dai più semplici ai più complessi; questi sono fattori trascrizionali quali OCT-4 (*Octamen binding transcription factor 4*), SOX2 (SRV-box2) e Nanog (dal celtico *Tir Nan Og*, ovvero “la terra dell’eterna giovinezza”). Le caratteristiche differenziate, ad ampio spettro, sono accompagnate da un’alta capacità pro-

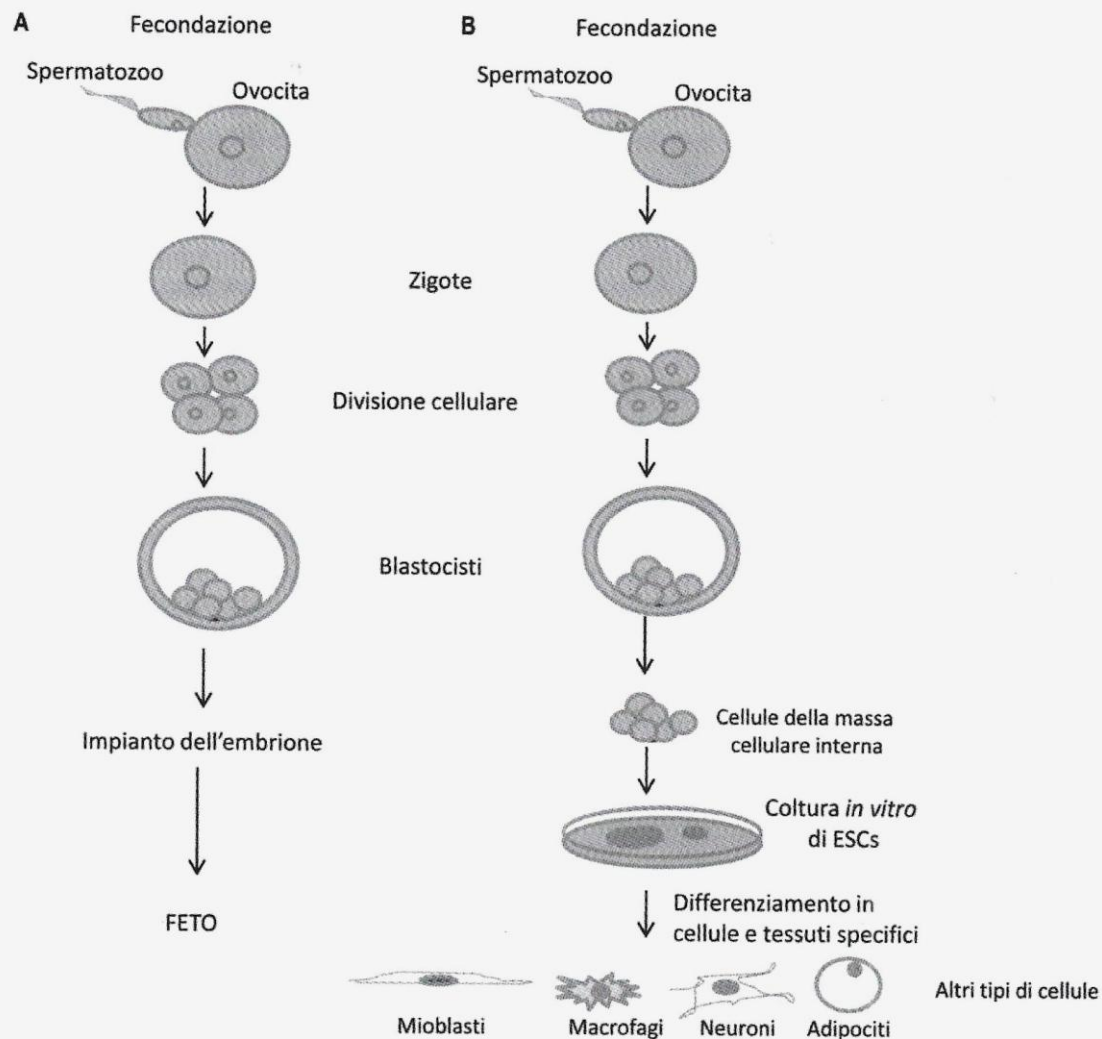


Fig. 1 – Le cellule staminali embrionali (ESC). A: sviluppo normale dello zigote; B: isolamento e coltura in vitro delle ESC. Citato da “Cellule Staminali” di G.P. Bagnara, edito Esculapio, 2013.

liferativa, ma le ESC presentano anche rischi, legati principalmente all’alta immunogenicità, che può scatenare reazioni di rigetto, e alla capacità di proliferazione non controllata che può portare alla formazione di tumori in seguito al trapianto *in vivo*. Inoltre la specifica derivazione delle cellule staminali embrionali, che comporta la distruzione dell’embrione umano, solleva ovvi problemi di carattere etico, che ne hanno limitato e ne limitano tuttora l’utilizzo (vedi legge 40 del 2004 che in Italia regola le “Norme in materia di procreazione medicalmente assistita”).

I limiti tecnici e i problemi etici legati all’utilizzo delle ESC hanno spinto la comunità scientifica ad ampliare gli studi: da una parte le nuove sorgenti alternative di cellule staminali adulte e dall’altra la creazione delle cellule staminali pluripotenti indotte (in inglese “*induced Pluripotent Stem Cells*”, iPSC), grazie alla comprensione sempre maggiore

dei meccanismi alla base della biologia delle cellule staminali.

Per quanto concerne le cellule staminali adulte, fino agli anni '50 del secolo scorso, i tessuti venivano classificati in *labili*, *stabili* e *perenni*, in base alle osservazioni di Giulio Bizzozero, il più importante istologo italiano dell’800. Tessuti come il sangue, per esempio, e l’epidermide vengono rimpiazzati continuamente, di conseguenza considerati *labili*; il fegato ritenuto tra i tessuti *stabili* in quanto normalmente non viene sostituito, ma in caso di lesione può andare in contro a rigenerazione; il cuore e il cervello invece, considerati incapaci di rinnovamento e riparo, sono definiti *perenni*. Oggi questa classificazione non esiste più in quanto non esistono tessuti considerati *perenni*: in un organismo adulto ogni tessuto possiede un compartimento o “nicchia” di cellule staminali che svolgono la funzione di mantenerne l’integrità strutturale e funzionale.

Grazie agli studi di Joseph Altman e Gopal Das, negli anni '60 del secolo scorso viene descritta per la prima volta la presenza di cellule proliferanti nel cervello adulto e successivamente negli anni '90 Samuel Weiss e Brent Reynolds isolano *in vitro* le cellule staminali neurali. In modo consequenziale, negli anni 2000 Bernardo Nadal-Ginard e Piero Anversa, riportano i risultati delle loro ricerche sull'isolamento e la caratterizzazione di cellule staminali cardiache residenti nel cuore adulto.

Ritornando agli anni '60-'70, nascono i primi modelli sperimentali di studio della biologia delle cellule staminali, basati su evidenze scientifiche comprovate dalla verifica in laboratorio. James Till ed Ernest McCulloch dimostrano la presenza, nel midollo osseo di topo, di cellule staminali ematopoietiche in grado di auto-rinnovarsi e differenziare nei diversi tipi cellulari presenti nel sangue. Questi studi hanno dato il via ad un'applicazione clinica della terapia con cellule staminali che rimane ancora oggi la più consolidata e il migliore esempio: il trapianto di midollo osseo per la cura delle leucemie e dei linfomi. Nello stesso periodo e nello stesso comparto tissutale, un altro illustreematologo sperimentale, Alexander Friedenstein, descrive una seconda popolazione cellulare residente nel midollo osseo ma differente da quella ematopoietica. Queste cellule, che crescono aderenti al supporto plastico utilizzato per le colture *in vitro*, a differenza delle cellule ematopoietiche in sospensione nel mezzo liquido di man-

tenimento, mostrano interessanti caratteristiche plastiche. Queste cellule, classificate come multipotenti, identificate per la prima volta nel midollo osseo e oggi descritte come presenti in diversi tessuti adulti (e.g. tessuto adiposo, polpa dentale, polmoni, intestino, muscoli), sono denominate Cellule Staminali Mesenchimali (MSC), in virtù della loro derivazione embriologica. Il mesenchima infatti è il tessuto connettivo embrionale da cui si originano tutti i tessuti stromo-connettivali dell'organismo.

Negli ultimi anni notevole attenzione, da parte dei ricercatori, si è concentrata sulle cellule staminali isolate da tessuti considerati di scarto come la placenta, le membrane fetali e il cordone ombelicale, per la facilità di recupero del materiale di partenza, le limitate implicazioni etiche e le caratteristiche di elevata plasticità.

Nel tentativo di trovare una sorgente di cellule staminali adulte in grado di superare i limiti da una parte legati all'utilizzo delle ESC e dall'altra ad alcuni tessuti adulti non facilmente disponibili, diversi gruppi di ricerca hanno focalizzato la loro attenzione sulla placenta umana e i tessuti extra-embryonali come possibili fonti di cellule staminali. Il fatto che i tessuti placentari derivino da uno stadio di sviluppo embrionale precoce va a sostegno dell'ipotesi che questi possano contenere cellule che hanno mantenuto la plasticità tipica delle cellule embrionali. Inoltre questi annessi embrionali sono considerati tessuti giovani, rispetto ai tessuti

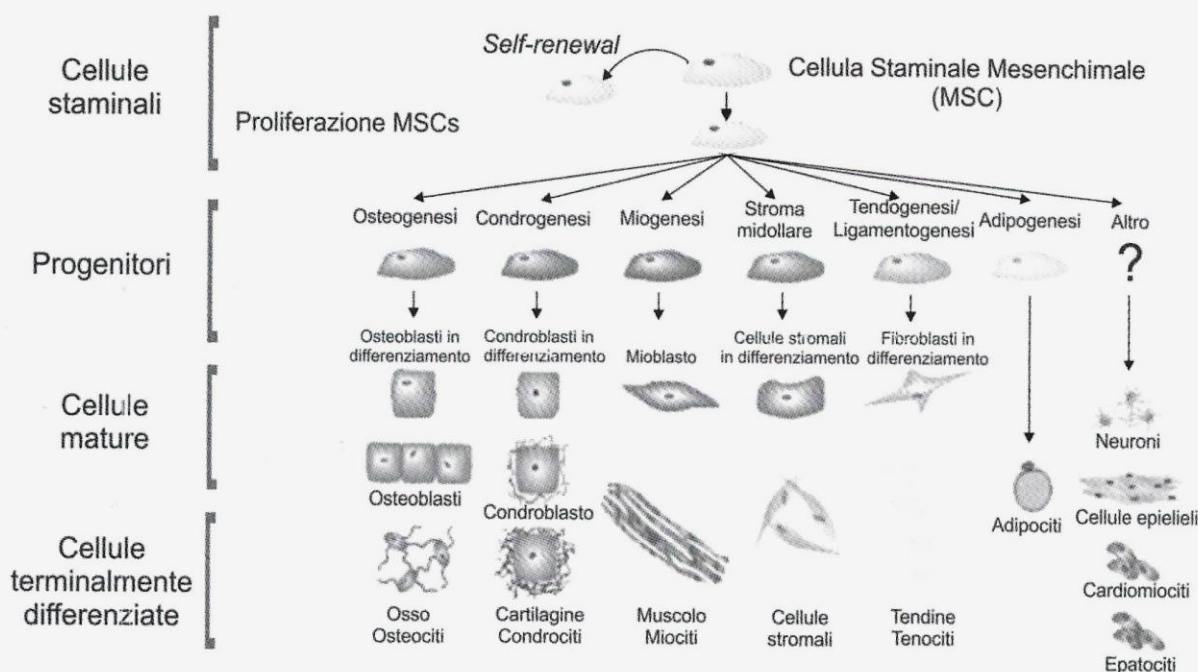


Fig. 2 – Le cellule staminali mesenchimali e il processo di differenziamento mesenchimale. Citato da "Cellule Staminali" di G.P. Bagnara, edito Esculapio, 2013.

adulti che accompagnano l'organismo per tutta la durata della vita, e per questo le cellule staminali derivate da essi potrebbero essere caratterizzate da un ridotto rischio di danni al loro patrimonio genetico. Da ultimo, ma non per questo meno importante, la placenta ha un ruolo fondamentale nel mantenere uno stato di tolleranza materno-fetale durante la gravidanza, evitando che il sistema immunitario della madre reagisca al feto allogeneo. Questa caratteristica suggerisce che le cellule derivate da placenta possano mantenere esse stesse un comportamento di tipo immunomodulatorio, che le renda in grado di controllare e inibire l'attivazione del sistema immunitario e ne faccia quindi uno strumento ideale per applicazioni terapeutiche basate sull'utilizzo di cellule staminali.

Le cellule mesenchimali attualmente trovano provate applicazioni in clinica in ambiti quali la rigenerazione del tessuto osseo, nella cura di importanti difetti ossei a seguito di traumi o patologie neoplastiche; il co-trapianto insieme alle cellule staminali ematopoietiche per aumentare l'efficienza di attecchimento nei trapianti di midollo osseo; l'infusione in pazienti che hanno ricevuto un trapianto di midollo osseo per controllare reazioni avverse come il rigetto del trapianto verso l'ospite. Molteplici sono invece gli ambiti di potenziale applicazione delle cellule mesenchimali a seguito di ricerche che però necessitano di ulteriori conferme cliniche per attribuire l'efficacia terapeutica alla terapia cellulare. In particolare, grazie alle loro proprietà immunomodulatorie e capacità di produzione e rilascio di fattori di crescita, le cellule mesenchimali potrebbero essere impiegate nel controllo delle malattie autoimmuni e del rigetto dei trapianti, nella riparazione delle patologie metaboliche e degenerative come il diabete giovanile, le malattie a carico dell'apparato cardiovascolare (infarto, ictus) e del sistema nervoso (morbo di Alzheimer, Parkinson e sclerosi multipla). Bisogna chiaramente precisare, per non creare false aspettative, che la speranza di utilizzo delle cellule mesenchimali in questi contesti è fondata su evidenze sperimentali ottenute in laboratorio che però devono essere ampiamente confermate dagli studi clinici secondo le normative vigenti che regolamentano questi aspetti, per garantire l'efficacia ma anche la sicurezza di questi trattamenti. Diversi lavori scientifici presenti nella letteratura mondiale incoraggiano la ricerca sulle cellule mesenchimali ma, per molte applicazioni, i meccanismi alla base di queste riposte devono essere ancora completamente delucidati.

Continuando la carrellata delle evidenze clinico-sperimentali, per le cellule staminali adulte, importanti risultati sono stati ottenuti nella rigenerazione delle lesioni epiteliali. Negli anni '70 James Rheinwald e Howard Green individuano nello stra-

to basale dell'epidermide la nicchia delle cellule staminali epiteliali e allestiscono colture *in vitro* di cellule epiteliali umane per la rigenerazione di lembi di epidermide in laboratorio. Nel 2000 Elaine Fuchs conferma la presenza di cellule staminali epiteliali anche nel follicolo pilifero, descrivendo una nicchia di cellule staminali multipotenti in grado di ripopolare i tessuti epiteliali e rigenerare gli annessi cutanei. Negli ultimi anni, il trattamento e la cura delle lesioni epiteliali, quali ustioni della pelle, malattie genetiche dell'epidermide e lesioni alla cornea, sono diventati tangibili e comprovati successi della terapia cellulare basata su un tipo di cellule staminali adulte.

Questo grazie anche alle ricerche di Michele De Luca e Graziella Pellegrini che, dagli anni '90, hanno pubblicato i loro studi sulla rigenerazione della pelle, approdando all'approccio combinato di terapia cellulare e terapia genica, utilizzato nella sperimentazione clinica, per trattare malattie genetiche come l'epidermolisi bollosa giunzionale, patologia caratterizzata da un progressivo scollamento degli strati più superficiali della pelle dal derma sottostante.

Gli stessi autori hanno esteso le conoscenze acquisite sulla cinetica cellulare delle staminali epiteliali all'ambito oftalmologico, riportando la generazione *in vitro* della cornea partendo da una popolazione cellulare staminale isolata da una regione specializzata della cornea stessa chiamata *limbus*. Come abbiamo precedentemente ricordato, a seguito dei limiti tecnici e delle controversie etiche

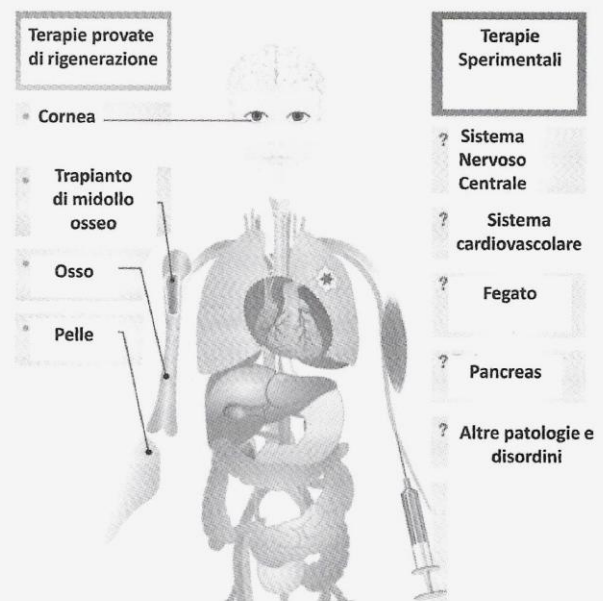


Fig. 3 – Esempi di terapie a base di cellule staminali. Modificato da "Regulation of stem cell therapies" di P Bianco *et al.*, The EMBO Journal, 2013.

legate all'utilizzo delle cellule staminali embrionali, i ricercatori hanno intrapreso una seconda strada, oltre all'ampliamento degli studi sulle staminali adulte: la riprogrammazione cellulare e la generazione di cellule pluripotenti indotte. Percorrendo questa direzione, nel 2006, Shinya Yamanaka, insieme ai suoi collaboratori, è riuscito a riprogrammare cellule somatiche, già differenziate, in cellule staminali pluripotenti. Il procedimento descritto nel 2006 prevede l'introduzione, mediante vettori retrovirali, di quattro specifici fattori coinvolti nel mantenimento dello stato di staminalità ed espressi ad alti livelli nelle ESC. Questi fattori comprendono Oct-4, Sox2, C-Myc e Klf4 e la loro riespressione ha permesso di ottenere cellule praticamente identiche alle ESC ottenute dalle blastocisti. Le cellule ottenute sono state definite cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) e in successivi esperimenti hanno mostrato la loro plasticità essendo capaci di differenziare in qualsiasi tipo cellulare. Queste evidenze sperimentali sono il risultato di quasi 50 anni di studi e partono dalle ricerche di John Gurdon negli anni '60 che realizza la prima clonazione di un vertebrato (una rana, *Xenopus laevis*) attraverso il trasferimento del nucleo proveniente da una cellula differenziata, all'interno di un ovocita precedentemente enucleato. Queste ricerche, insieme al risultato di Yamanaka, dimostrano la possibilità di "riprogrammare"

cellule terminalmente specializzate, facendo riacquistare al loro genoma la plasticità delle cellule embrionali pluripotente: nel caso di Gurdon grazie all'azione del microambiente ovocitario che riprogramma il nucleo trasferito della cellula matura; per quanto riguarda Yamanaka, grazie alla riattivazione, guidata dai fattori introdotti nella cellula somatica, dei programmi genetici che sovrintendono alla staminalità.

Lo straordinario merito, a livello mondiale, dei due scienziati che hanno studiato i meccanismi alla base della riprogrammazione del destino delle cellule, viene riconosciuto nel 2012 con l'assegnazione del premio Nobel per la Medicina. Si aprono quindi nuove prospettive eticamente accettabili e rispettose della vita umana per quanto riguarda le ricerche sulle cellule staminali pluripotenti e le loro applicazioni. Oggi sono numerose le ricerche ancora in corso per comprendere appieno il meccanismo della riprogrammazione e aumentare l'efficienza di questo processo cercando inoltre di eliminare potenziali rischi di sicurezza, legati all'utilizzo di vettori retrovirali per l'introduzione dei fattori inducenti.

In prospettiva le iPSCs possiedono un'enorme potenzialità: possono costituire importanti modelli di studio delle malattie degenerative che affliggono la nostra società nonché potenziali strumenti terapeutici nell'ambito della rigenerazione tissutale per

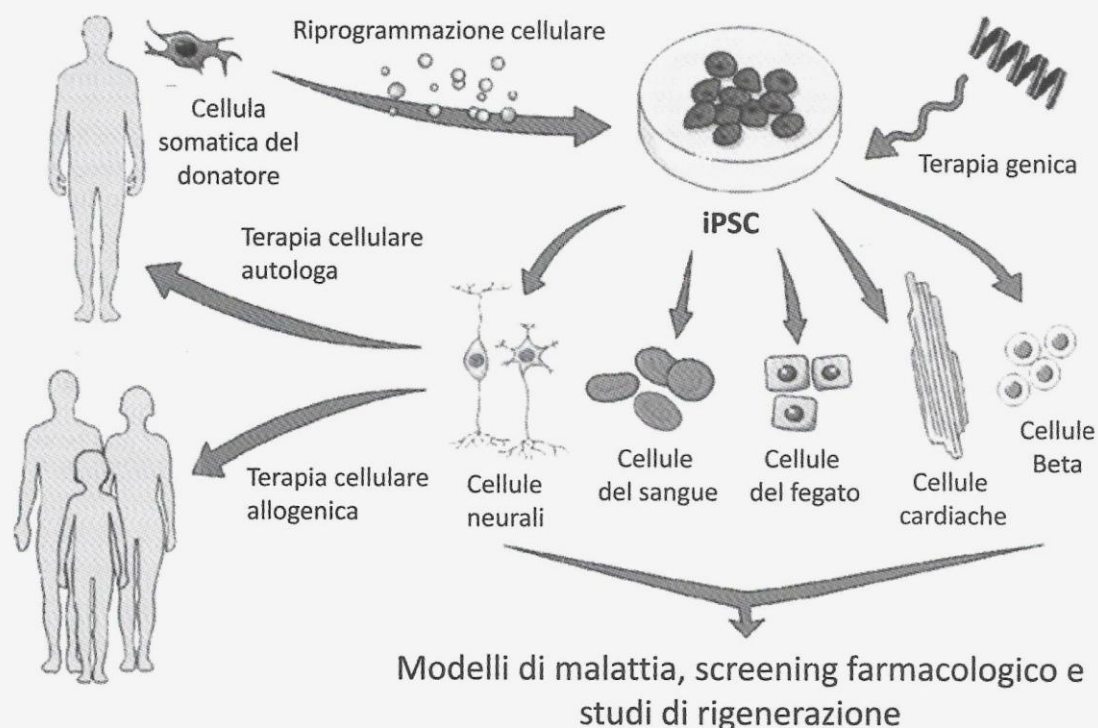


Fig. 4 – Derivazione e utilizzo clinico delle cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC). Modificato da *Annals of Internal Medicine* 19 Luglio 2011, Vol. 155, No. 2.

quelle patologie difficili da trattare con le terapie convenzionali e con le cellule staminali adulte. Le iPSC eliminano il problema del rigetto in quanto sono generate direttamente dalle cellule somatiche del paziente: in particolare si possono ottenere iPSC da pazienti con patologie genetiche, disordini metabolici o degenerativi, correggere il difetto nelle cellule riprogrammate, differenziare le cellule staminali corrette verso il commissionamento richiesto e trapiantare le cellule nel paziente. Modelli animali di malattie come l'anemia falciforme e il morbo di Parkinson sono stati trattati con le iPSC, riportando, nei rispettivi lavori scientifici pubblicati, risultati soddisfacenti. Rimangono comunque anche per questa promettente fonte cellulare, diversi aspetti critici: la riprogrammazione del genoma che avviene in queste cellule ridona loro un'elevata plasticità che rende però queste cellule geneticamente instabili e potenzialmente tumorigeniche. In conclusione, le cellule staminali rappresentano una grande potenzialità per la cura di molte malattie che minacciano la salute umana. In futuro malattie che potrebbero essere curate con l'aiuto delle cellule staminali comprendono il morbo di Parkinson, le patologie coronariche, le cardiomiopatie, le malattie metaboliche come il diabete e la terapia di sostituzione cellulare nelle patologie neurodegenerative. Ovviamente ci sono decine di altre malattie sulle quali si sta lavorando, le patologie oculari degenerative come la retinite pigmentosa e la degenerazione maculare, nonché disturbi muscolo-scheletrici come la distrofia muscolare. La Scienza e la Tecnica offrono, quindi, grazie alle scoperte che si susseguono sempre più velocemente, strumenti affascinanti che sembrano rispondere in modo apparentemente illimitato alla domanda di salute che nella drammaticità della malattia l'uomo invoca alla Medicina. Il XXI secolo sarà il secolo della Medicina Rigenerativa ma le conoscenze e le abilità che derivano dalle scoperte dovranno essere sempre temperate dalla giustizia e dal rispetto della dignità della vita umana.

Le tappe miliari della ricerca sulle cellule staminali.

- 1908 - Alexander Maximov (1874-1928), istologo ed embriologo russo, propone il termine "cellule staminali" durante il congresso della Società di Ematologia di Berlino, postulando l'esistenza di una cellula staminale emopoietica da cui tutte le cellule del sangue derivano.
- 1963 - James Till e Ernest McCulloch dimostrano la presenza, nel midollo osseo di topo, di cellule in grado di autorinnovarsi.
- 1960s - Joseph Altman e Gopal Das presentano evidenze scientifiche di neurogenesi nell'adulto, in contrasto con il dogma centrale delle Neuroscienze elaborato da Ramon Cajal alla fine del

XIX secolo sull'immutabilità del tessuto nervoso.

- 1962 - John Gurdon realizza la prima clonazione di un vertebrato attraverso il trasferimento di un nucleo proveniente da una cellula differenziata derivata da una specie di anfibio in un ovocita precedentemente enucleato.
- 1968 - Successo nel trapianto di midollo osseo tra due fratelli per curare una grave forma di immunodeficienza (SCID).
- 1970s - Alexander Friedenstein descrive una popolazione cellulare derivata dal midollo osseo differente da quella ematopoietica, con caratteristiche multipotenti.
- 1970s - James Rheinwald e Howard Green allestiscono colture *in vitro* di cellule epiteliali umane per la rigenerazione di lembi di epidermide in laboratorio.
- 1978 - Individuate nel sangue cordonale umano cellule staminali ematopoietiche.
- 1978 - Nasce in Inghilterra Louise Brown, la prima bambina "in provetta".
- 1981 - Martin Evans e Matt Kaufman derivano cellule staminali pluripotenti dalla blastocisti di topo e stabiliscono le condizioni di coltura *in vitro* delle cellule staminali embrionali (ESC).
- 1997 - Ian Wilmut effettua con successo la prima clonazione di un mammifero a partire dal DNA di un animale adulto.
- 1998 - James Thomson deriva cellule staminali embrionali da blastocisti umane e le propaga in coltura per innumerevoli passaggi. Vengono create diverse linee di cellule pluripotenti embrionali umane che iniettate in topi immunodepressi formano teratomi.
- 2006 - Shinya Yamanaka e il suo collaboratore Kazutoshi Takahashi riescono a riprogrammare cellule somatiche differenziate in cellule staminali pluripotenti grazie all'introduzione di 4 geni coinvolti nell'auto-mantenimento e nella plasticità staminale. Vengono create le *induced Pluripotent Stem Cells* (iPSC).
- 2012 - Conferimento del premio Nobel per la Medicina a John Gurdon e Shinya Yamanaka per gli importanti studi che hanno portato alla comprensione dei meccanismi alla base della riprogrammazione del destino cellulare.

Bibliografia

- AMY M., *et al.* Mesenchymal stem cells in tissue repair. *Frontiers in Immunology*. 2013; 4: 201.
- Beltrami A.P., *al.* Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*. 2003; 114: 763-776.
- BIANCO P., *et al.* The meaning, the sense and the significance: translating the science of mesenchymal

- stem cells into medicine. *Nature Medicine*. 2013; 19, 35-42.
- BOYER L.A., *et al.* Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells. *Cell*. 2005; Sep 23; 122 (6): 947-56.
- FRIEDENSTEIN A.J., *et al.* Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. *Exp Hematol* 1973; 2: 83-92.
- MAVILIO F., *et al.* Correction of junctional epidermolysis bullosa by transplantation of genetically modified epidermal stem cells. *Nature Medicine*. 2006; Dec; 12(12): 1397-402.
- MURPHY M.B., *et al.* Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine. *Experimental and Molecular Medicine*. 2013; Nov 15; 45-54.
- PAROLINI O., *et al.* Concise review: isolation and characterization of cells from human term placenta: outcome of the first international Workshop on Placenta Derived Stem Cells. *Stem Cells*. 2008; Feb; 26 (2): 300-11.
- PELLEGRINI G., *et al.* Concise Review: Hurdles in a Successful Example of Limbal Stem Cell-based Regenerative Medicine. *Stem Cells*. 2014; Jan; 32 (1): 26-34.
- RAMALHO-SANTOS M., *et al.* On the Origin of the Term "Stem Cell". *Cell Stem Cell*. 2007; Jun 7; 1 (1): 35-8.
- TAKAHASHI K., *et al.* Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007; 131: 1-12.
- THOMSON J.A., *et al.* Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998; 282: 1145-7.
- WATT F.M., *et al.* Out of Eden: stem cells and their niches. *Science*, 2000; Feb 25; 287: 1427-1430.
- ZHU Z., HUANGFU D., Human pluripotent stem cells: an emerging model in developmental biology. *Development*. 2013; Feb; 140(4): 705-17.